

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ДЕПО ОКСИДА АЗОТА В КРОВЕНОСНЫХ СОСУДАХ

Манухина Е.Б., Смирин Б.В., Машина С.Ю.,
Пшенникова М.Г., *Ванин А.Ф., Малышев И.Ю.

*НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, г. Москва,
Институт химической физики РАН, г. Москва

Оксид азота (NO) является одним из важнейших факторов эндогенной защиты организма от повреждающих воздействий. Однако, при избыточной продукции NO утрачивает свои защитные функции и начинает оказывать вазодепрессорное и прямое цитотоксическое действие. Поэтому очевидно, что организм должен обладать возможностью «детоксикации» его избытка путем связывания. Действительно, известно, что NO может связываться в комплексы, которые образуют в клетках физиологически активное депо NO. Это депо может постепенно высвобождать NO, и тем самым служить дополнительным неферментативным источником свободного NO. представляя собой Основными формами депонирования и транспортировки NO в живом организме являются S-нитрозотиолы и динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ). Эти два типа соединений способны к взаимопревращениям в зависимости от уровня в клетке Fe^{2+} , низкомолекулярных тиолов и NO (1, 2).

Для выявления и оценки депо NO мы использовали реакцию диэтилдитиокарбамата (ДЭТК) с ДНКЖ и S-нитрозотиолами с образованием вазорелаксирующих продуктов. Контрольные препараты под действием ДЭТК никогда не расслабляются. Препараты, выделенные у животных после стимулирования эндогенного синтеза NO или введения донора NO, а также препараты, предварительно инкубированные с донором NO, отвечают на ДЭТК расслаблением. Степень расслабления сосуда на ДЭТК отражает величину депо NO (4, 7).

Уровень продукции NO предопределен генетически. Существует наследственно обусловленное снижение продукции эндотелиального NO, например, у спонтанно-гипертензивных крыс линий SHR и SHRSP (5). Имеются также линии животных с повышенной продукцией NO, например, крысы Август (3). Соотношение между продукцией и депонированием NO у крыс разных линий изучали в условиях стимулирования синтеза NO путем адаптации крыс к гипоксии в барокамере (7). Полный курс адаптации составлял 40 сеансов.

Адаптация к гипоксии крыс SHRSP и контрольных крыс Вистар-Киото (WKY) достоверно увеличивала продукцию NO и приводила к формированию депо NO в стенке аорты у крыс обеих линий, причем величина этого депо была значительно больше у WKY, чем у SHRSP

(19,6% vs. 9,4%, соответственно). У адаптированных SHRSP АД было достоверно ниже, чем у неадаптированных (156 ± 4 vs. 216 ± 7 мм рт. ст., $p < 0,05$), в то время как у WKY АД при адаптации практически не изменялось. Потенциальная емкость депо NO, которая определялась как максимальный объем депо NO, образовавшегося при инкубации изолированной аорты с избытком донора NO ДНКЖ на фоне ингибитора NO-синтазы L-NNA, у SHRSP была достоверно ниже, чем у Вистар-Киото ($21,2 \pm 3,1\%$ по сравнению с $38,3 \pm 5,0\%$, соответственно, $p < 0,05$).

Связь между уровнем NO, депонированием NO и АД для нормотензивных и спонтанно-гипертензивных крыс может быть представлена следующим образом (рис. 1). При повышении уровня NO в организме часть избытка NO связывается в депо, а несвязанная часть NO проявляет свое биологическое действие, вызывая снижение АД. При высокой эффективности депонирования количество связанного NO, т.е. объем депо оказывается большим, а снижение АД незначительным. Эта ситуация имеет место у WKY. Напротив, при низкой эффективности депонирования остается много свободного NO, который оказывает более выраженное гипотензивное действие, что и наблюдалось у SHRSP.

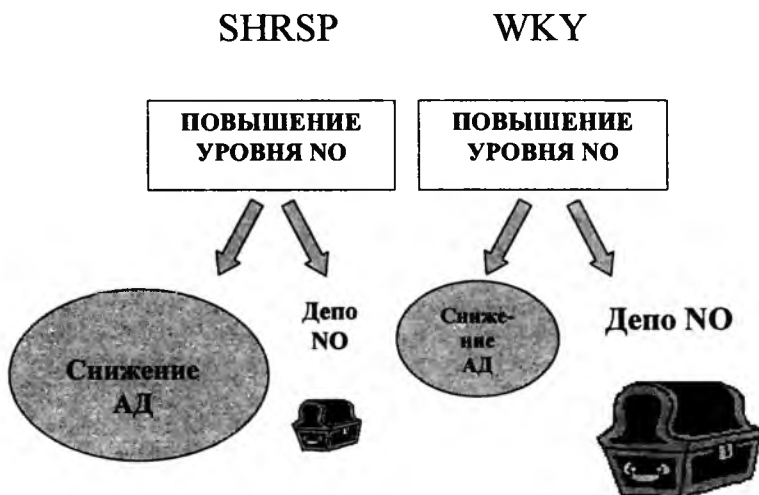


Рис.1. Возможная связь между уровнем NO, депонированием NO и АД у нормотензивных и спонтанно-гипертензивных крыс.

Таким образом, сосуды спонтанно-гипертензивных крыс обладают более низкой способностью к депонированию NO, чем сосуды нормотензивных животных. По-видимому, этим объясняется тот факт, что у WKY, в отличие от SHRSP, при адаптации к гипоксии, несмотря на усиление продукции NO, не происходит снижения АД. Кроме того, ранее было показано, что одной из функций депо NO является связывание избытка NO для защиты организма от его токсического действия (2). Поскольку для спонтанно-гипертензивных крыс характерна гиперпродукция NO в сосудистых гладких мышцах, приводящая к инаktivации эндотелиальной NO-синтазы и дисфункции эндотелия (8), можно предположить, что сниженная способность к депонированию NO способствует развитию этого повреждения.

Далее представляло интерес изучить соотношение между продукцией и депонированием NO у животных с врожденно повышенным уровнем продукции NO. Поскольку у крыс Август как базальная, так и стимулированная продукция NO в организме выше, чем у Вистар (3), можно предположить, что Август должны обладать более мощной системой связывания NO в депо для защиты организма от повреждающего действия избытка NO.

Для стимулирования продукции NO у крыс Вистар и Август также использовалась адаптация к гипоксии. Хотя исходно продукция NO в организме, которая определялась по концентрации нитратов/нитритов, у крыс Август была выше, ее прирост в процессе адаптации происходил медленнее, и концу курса этот показатель у крыс Август оказался ниже, чем у Вистар. Депонирование NO у крыс Август происходило значительно быстрее, чем у Вистар, и к концу курса адаптации величина депо у Август превышала таковую у Вистар почти в 2 раза (рис. 2).

Для оценки значения для организма высокой продукции и эффективности депонирования NO у крыс Вистар и Август была сопоставлена степень стрессорных повреждений желудка при 30-минутном эмоциональном стрессе до и после стимулирования синтеза NO с помощью адаптации к гипоксии. Известно, что вызванные стрессом язвы слизистой оболочки желудка обусловлены адренергической вазоконстрикцией мелких сосудов, и NO является важным фактором защиты от таких повреждений (6).

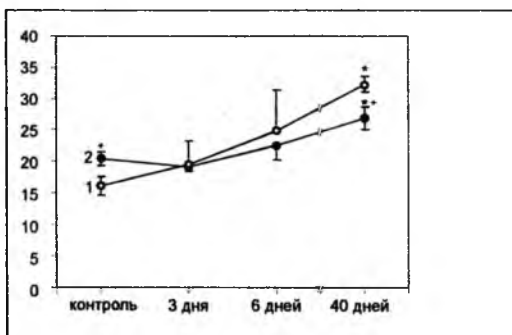
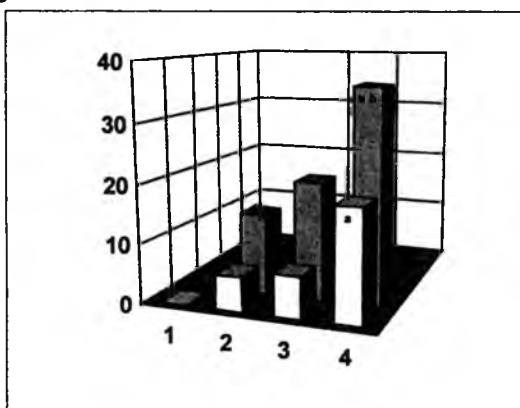
A**B**

Рис. 2. Влияние адаптации к гипоксии на уровень нитритов/нитратов в плазме (А) и депонирование NO (В) у крыс Вистар и Август.

А: По оси абсцисс – продолжительность адаптации, дн., по оси ординат – концентрация нитритов и нитратов в плазме, мкМ.

○ – Вистар; ● – Август.

^aДостоверные отличия от контроля, $p < 0,05$.

^bДостоверные различия между линиями Вистар и Август, $p < 0,05$.

В: Депонирование NO в стенке сосудов крыс Вистар и Август при адаптации к гипоксии.

По оси ординат - величина расслабления аорты под действием диэтил-дигидрокарбамата в % от величины сокращения, вызванного норадреналином.

1 - контроль, 2 - 3 сеанса адаптации, 3 - 6 сеансов адаптации, 4 - 40 сеансов адаптации.

^aДостоверные отличия от контроля, $p < 0,05$.

^bДостоверные различия между линиями Вистар и Август, $p < 0,05$.

Устойчивость к стрессорному язвообразованию у неадаптированных крыс Август была значительно выше, чем у крыс Вистар. После 6 дней адаптации при стрессе у крыс обеих линий проявлялся защитный «противоязвенный» эффект. Однако, в отличие от 6-дневной, 40-дневная адаптация к гипоксии не только не защищала желудок от стрессорных язв, но даже усиливала их (рис. 3).

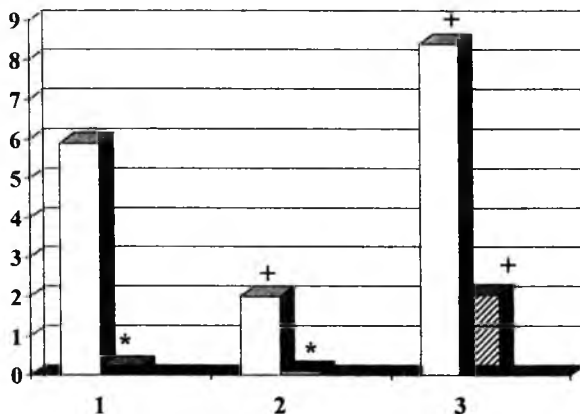


Рис. 3. Влияние адаптации к гипоксии на стрессорные язвы желудка у крыс Вистар и Август.

Белые столбики – Вистар, заштрихованные столбики – Август. 1 – неадаптированные крысы, 2 – 6 сеансов адаптации, 3 – 40 сеансов адаптации.

По оси абсцисс – суммарная площадь язвенных поражений, мм².

* Достоверные отличия от неадаптированных крыс, $p < 0,05$.

+ Достоверные различия между крысами Вистар и Август, $p < 0,05$.

Как уже упоминалось выше, длительная адаптация приводила к резкому увеличению депонирования NO, причем объем сформировавшегося депо был значительно больше, чем ранее было обнаружено, например, при введении донора NO (4). Можно предположить, что в результате интенсивного депонирования слишком много активного NO оказалось связанным в депо, что вызвало его относительный дефицит и создало предрасположенность к стрессорной вазоконстрикции и образованию язв в желудке. Эти данные впервые указывают на возможность при определенных условиях избыточного депонирования NO, которое может оказать неблагоприятное воздействие на резистентность организма к стрессорным повреждениям. Таким образом, степень депониро-

вания NO следует принимать во внимание при разработке схем дозированной адаптации, применяемой в профилактических и лечебных целях.

Таким образом, способность к депонированию NO, как и мощность NO-продуцирующих систем, по-видимому, генетически детерминирована. Формирование и распад депо NO может играть роль в предупреждении нарушений, связанных как с избытком, так и с дефицитом NO, что ставит вопрос о необходимости изучения возможности направленного модулирования этого процесса.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 00-04-48485, 00-04-48808 и 01-04-48699) и Московского комитета по науке и технологии (грант 1-1-133).

Литература

1. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы – две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биосистемах // Биохимия. – 1998. – т.7, № 63.- С. 924-938.
2. Манухина Е.Б., Смирин Б.В., Малышев И.Ю., Стокле Ж.-К., Мюллер Б., Солодков А.П., Шебеко В.И., Ванин А.Ф. Депо оксида азота в сердечно-сосудистой системе // Известия РАН. Сер. биол. - 2002 (в печати).
3. Микоян В.Д., Кубрина Л.Н., Манухина Е.Б., Малышева Е.В., Малышев И.Ю., Ванин А.Ф. Различия в стимуляции синтеза NO при тепловом шоке у крыс генетически различных популяций // Бюлл. эксп. пер. биол. и мед. – 1996.- т.6, №121. – С. 634-637.
4. Смирин Б.В.Ю Ванин А.Ф., Малышев И.Ю., Покидышев Д.А., Манухина Е.Б. Депонирование оксида азота в кровеносных сосудах in vivo. // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1999. – т.6, № 127. – С. 629-632.
5. Chou T.C., Yen M.H., Ding Y.A. Alterations of nitric oxide synthesis with aging and hypertension in rats. // Hypertension. – 1998. – vol. 31. – P. 643-648.
6. Elliott S.N., Wallace J.L.. Nitric oxide: a regulator of mucosal defense and injury. J. // Gastroenterol. – 1998. – vol. 33. – P.792-803.
7. Manukhina E.B., Malyshev I.Yu., Smirin B.V., Mashina S.Yu., Saltykova V.A., Vanin A.F. Production and storage of nitric oxide in adaptation to hypoxia. // Nitric Oxide. – 1999. – vol. 3. – P. 393-401.
8. Wu C.-C., Yen M.-H. Nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. // Biomed. Sci. – 1997. – vol. 4. – P.249-255.